U. S. SURGEON GENERAL'S OFFICE.

Thesis Giessen (ss)

658435

Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Lipoide für die Ernährung.

HABILITATIONSSCHRIFT

zur

Erlangung der Venia legendi

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Großherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

im Mai 1911 vorgelegt

von

Dr. Wilhelm Stepp,

Assistent der medizinischen Universitätsklinik in Gießen.

München 1911.

Druck von R. Oldenbourg.

Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Lipoide für die Ernährung.

HABILITATIONSSCHRIFT

zur

Erlangung der Venia legendi

der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Großherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

im Mai 1911 vorgelegt

von

Dr. Wilhelm Stepp,

Assistent der medizinischen Universitätsklinik in Gießen.

München 1911.

Druck von R. Oldenbourg.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154005_0289

In einer früheren Arbeit[1]) hatte ich die Frage in Angriff genommen, ob die Lipoide für die Erhaltung des Lebens unentbehrliche Nahrungsbestandteile sind. Die Versuche waren derart angestellt worden, dafs eine für Mäuse ausreichende Nahrung — es wurde damals Brot gewählt — mit Alkohol und Äther extrahiert und dann an Mäuse verfüttert wurde. Sämtliche mit einem solchen Futter ernährte Tiere gingen nach 3—4 Wochen zugrunde, während Kontrolltiere, die das gleiche Futter mit nachträglichem Zusatz der Extrakte erhielten, um diese Zeit noch am Leben und völlig munter waren. Diese und einige andere damals angestellte Versuche bedurften in verschiedener Beziehung der Ergänzung. Insbesondere war folgender Punkt sicherzustellen. Bei der stundenlangen Extraktion gehen stets gewisse, wenn auch kleine Mengen von anorganischen Salzen in Lösung, und es bestand so die Möglichkeit, dafs der Tod der mit extrahiertem Futter ernährten Tiere nicht eine Folge des Lipoidmangels, sondern der Salzarmut der Nahrung

1) Biochem. Zeitschr. 1909, Bd. 22 S. 452.

war. Ein dieses Bedenken berücksichtigender, damals ausgeführter Kontrollversuch erschien aus andern Gründen nicht voll beweiskräftig. Ich hatte daher weitere Untersuchungen über diese sowie andere physiologische Fragen in Aussicht gestellt, über die im nachfolgenden berichtet werden soll.

Kapitel I. Methodisches.

Die zu den Fütterungsversuchen verwandten weifsen Mäuse im Gewicht von 18—20 g wurden getrennt in Gläsern auf trockenem Sägemehl gehalten. Futter und Wasser erhielten die Tiere in kleinen, etwa 8 ccm fassenden, täglich sauber gereinigten Gläschen, die auf einem Gestell von Weifsblech standen, wo sie durch eine Hülse vor dem Umfallen geschützt waren. Da Futter und Wasser mindestens zweimal täglich erneuert wurden, konnten die Mäuse nach Belieben fressen und trinken. Das Gewicht wurde täglich oder alle zwei Tage kontrolliert.

Vor Beginn des Versuches wurden die Tiere meist mehrere Tage bei gewöhnlichem, d. h. nicht extrahiertem Futter gehalten, und es wurde auf Gewicht, Frefslust und dgl. geachtet. Tiere, die vor Beginn des Versuchs bereits abgenommen hatten, wurden nicht verwandt. Es wurden fast ausschliefslich Männchen genommen, da bei weiblichen Tieren eine vorher nicht sicher auszuschliefsende Gravidität die Beurteilung der Versuche erschwert hätte.

Während bei den Versuchen, über die ich früher[1]) berichtet habe, das zur Verwendung kommende Brot in einem $^3/_4$ l fassenden Soxhletschen Extraktionsapparat 12 Stunden mit Alkohol und 12 Stunden mit Äther extrahiert worden war, verarbeitete ich später wesentlich gröfsere Futtermengen auf einmal; und zwar benutzte ich einen Soxhletschen Apparat von 3 l Inhalt. Dabei zeigte es sich, dafs die Extraktionsdauer ganz erheblich verlängert werden mufste, um eine völlige Erschöpfung des Futters zu erzielen. Ich extrahierte daher stets 3×24 Stunden mit Alkohol, dann 3×24 Stunden mit Äther, schliefslich noch

1) a. a. O.

einmal 3×24 Stunden mit Alkohol. Als Futter verwandte ich anfangs milchgebackenes Weizenbrot, dann ausschliefslich Protamol, das mit Milch zu einem Teig (auf 100 g Protamol 75 ccm Milch) angemacht, dann getrocknet und schliefslich zu einem groben Pulver zermahlen wurde.

Protamol ist ein aus Reiskorn durch ein bestimmtes Verfahren mit Ammoniumkarbonat, Ammoniak und Milchsäure dargestelltes eiweifsreiches Mehl, das von der Firma Cordes in Magdeburg in den Handel gebracht wird. Durch Verrühren dieses Mehls mit Milch erhält man einen Teig, der nach dem Trocknen wochen- und monatelang aufbewahrt werden kann, ohne irgendwelche Veränderungen zu zeigen. Insbesondere wird das Milchprotamol nicht so aufserordentlich hart, wie andere Mehlsorten bei entsprechender Verarbeitung.

Mit einem solchen Milchprotamol allein kann man Mäuse, wie ich mich in Versuchen, die mehrere Monate währten, überzeugte, in ausgezeichneter Weise ernähren. Auch junge Mäuse von 10—12 g Gewicht entwickeln sich bei ausschliefslicher Fütterung mit Milchprotamol vorzüglich.

Unter extrahiertem Milchprotamol ist im folgenden stets ein in der oben beschriebenen Weise von den Lipoiden vollkommen befreites Futter verstanden.

Kapitel II.

Versuche mit extrahiertem Futter plus nachträglichem Salzzusatz.

In den in diesem Kapitel angeführten Versuchen ist die schon eingangs berührte Frage geprüft, ob bei den Resultaten der früher veröffentlichten Fütterungsversuche mit lipoidfreier Nahrung nicht etwa eine durch die Alkoholextraktion bewirkte Salzarmut der Nahrung eine Rolle spielt. Dies wurde in der Weise ausgeführt, dafs Mäuse eine extrahierte Nahrung erhielten, der die Salze nachträglich wieder zugesetzt worden waren.

Die Extrakte wurden verascht, der Rückstand in Wasser gelöst, dann wurde filtriert und das Filtrat dem in Wasser eingeweichten extrahierten Futter zugegeben, dann das Futter getrocknet. Die Reaktion der Aschelösung war schwach alkalisch, der Geschmack salzig.

Versuchsreihe I. Extrahiertes Milchprotamol plus Salze.

12 Mäuse (Serie Nr. 55—60 und Nr. 157—162) wurden mit extrahiertem Milchprotamol, dem nachträglich die bei der Extraktion in Lösung gegangenen Salze wieder zugesetzt worden waren, ernährt. In der einen Serie (Nr. 157—162) wurden junge Tiere verwandt.

Sämtliche Tiere starben unter starker Körpergewichtsabnahme, das letzte war nach 15 Tagen tot.

Tabelle I.

Datum	Serie Nr. 55—60 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 157—162 Gewicht von Maus					
	55	56	57	58	59	60		157	158	159	160	161	162
1910							1910						
24. III.	18,2	16,5	16,0	17,2	19,7	16,8	16. VIII.	12,2	13,7	13,0	12,7	12,7	13,0
26. »	17,5	17,1	16,3	15,7	18,8	16,7	18. »	12,4	12,7	12,8	12,2	12,8	12,5
28. »	15,8	17,6	15,0	†	17,8	15,0	20. »	12,7	12,9	12,9	12,8	13,3	12,7
30. »	15,3	15,3	12,7		15,2	†	22. »	12,2	12,7	11,7	12,4	12,7	12,0
1. IV.	15,0	14,7	11,8		14,8		23. »	11,3	12,4	11,0	11,7	11,9	11,1
3. »	13,6	14,5	†		12,3		25. »	9,5	11,0	9,7	10,3	10,6	9,3
5. »	12,5	12,0			†		27. »	9,0	10,7	†	8,8	9,8	8,8
6. »		†					29. »	†	9,3		†	9,0	8,5
7. »	†						30. »		†			†	8,0
							31. »						†

Versuchsreihe II. Extrahiertes Weizenbrot plus Salze.

In diesem Versuch wurden 12 Tiere (Serie Nr. 1—6 und Nr. 19—24) jeweils durch mehrere Wochen mit Futterportionen ernährt, die verschieden lange Zeit dem Extraktionsprozefs unterworfen waren. Bei Darreichung von Brot, das in einem 3 l-Soxhlet 14 Stunden mit Alkohol und 14 Stunden mit Äther, also, wie oben erwähnt, nicht genügend lange Zeit extrahiert worden war, hatten die Tiere nach vier Wochen zum Teil nicht unerheblich an Gewicht zugenommen. Bei Verabreichung von 40 Stunden mit Alkohol und 40 Stunden mit Äther extrahiertem Futter trat bei einigen Tieren lediglich eine leichte Gewichts-

abnahme ein, und es waren nach vier Wochen noch alle Tiere am Leben. Als nun ein Futter verabreicht wurde, das 90 Stunden mit Alkohol, 50 Stunden mit Äther extrahiert worden war, begannen die Tiere ausnahmslos rasch an Gewicht abzunehmen

Tabelle II.

Datum	Serie Nr. 1–6 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 19–24 Gewicht von Maus					
	1	2	3	4	5	6		19	20	21	22	23	24
Futter 20 Stunden mit Alkohol und 20 Stunden mit Äther extrahiert.													
1909													
30. X.	20,5	20,0	17,5	15,0	18,3	19,5							
1. XI.	20,5	20,0	17,2	15,2	17,5	19,2							
3. »	20,7	19,5	16,8	15,5	17,2	20,0							
5. »	20,7	20,5	16,7	15,7	17,0	19,5							
7. »	20,3	20,0	16,8	16,2	17,0	19,6							
9. »	20,7	20,4	16,8	15,6	17,4	19,1							
11. »	20,0	20,5	16,8	15,6	17,0	19,1							
13. »	19,5	20,1	17,2	16,0	17,0	19,7							
15. »	20,2	20,7	17,5	16,5	17,2	20,5							
17. »	20,2	21,0	17,7	16,8	17,3	20,2							
19. »	20,5	20,7	17,2	16,7	18,2	20,4							
21. »	21,0	20,5	16,5	16,3	18,2	20,7							
23. »	20,8	21,2	16,8	17,0	18,4	21,2							
25. »	21,6	21,0	17,5	17,3	18,7	21,5							
27. »	20,7	21,6	17,0	16,8	17,6	20,8							
29. »	22,0	21,3	17,2	17,1	18,5	20,7							
Futter 40 Stunden mit Alkohol und 40 Stunden mit Äther extrahiert.													
1909							1909						
1. XII.	22,1	21,7	17,5	17,7	18,5	20,9	1. XII.	20,2	18,7	19,5	19,2	22,0	21,5
3. »	21,7	21,6	17,6	17,2	18,4	21,0	3. »	20,5	19,9	19,2	19,9	23,5	22,2
6. »	22,0	21,6	17,0	16,7	17,5	19,2	6. »	19,7	17,5	19,2	19,0	21,0	21,0
8. »	21,8	21,7	17,5	16,9	17,5	18,5	8. »	19,9	16,7	18,5	19,0	20,8	20,6
10. »	22,2	21,5	17,5	17,1	17,5	18,8	10. »	19,7	16,7	19,5	18,2	20,2	20,1
13. »	21,5	20,7	17,2	16,1	16,6	16,5	13. »	18,7	†	19,7	18,0	19,5	20,1
15. »	21,3	20,2	17,4	16,5	17,0	16,0	15. »	18,7		19,0	17,5	19,8	19,2
17. »	22,0	20,7	17,0	16,6	17,0	16,5	17. »	19,1		19,2	18,2	20,8	19,7
20. »	20,8	20,8	17,5	16,3	16,6	15,5	20. »	18,7		18,7	18,3	21,5	20,2
21. »	20,5	20,7	17,6	16,5	16,6	15,4	21. »	18,4		19,5	18,5	21,3	20,6
24. »	20,9	20,4	18,0	16,8	17,2	16,2	24. »	18,5		19,7	17,3	21,5	20,2
27. »	19,8	19,8	18,5	17,0	16,6	15,5	27. »	17,0		19,2	18,3	22,0	19,8
28. »	20,7	20,0	18,5	16,0	17,2	15,7	28. »	16,8		19,5	18,9	22,5	19,7

Datum	Serie Nr. 1–6 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 19–24 Gewicht von Maus					
	1	2	3	4	5	6		19	20	21	22	23	24
Futter 90 Stunden mit Alkohol, 50 Stunden mit Äther, dann noch einmal 20 Stunden mit Alkohol extrahiert													
1909							1909						
31. XII.	20,5	19,9	17,8	15,5	17,7	14,0	31. XII.	15,9		19,2	19,0	20,8	17,5
1910							1910						
3. I.	17,0	17,0	16,7	13,5	16,8	13,0	3. I.	14,0		16,5	16,2	19,5	17,0
5. »	16,5	16,5	15,5	13,5	16,7	12,8	5 »	†		15,7	18,2	19,7	18,7
8. »	14,2	14,6	14,8	12,8	15,2	†	8. »			14,2	16,2	17,0	18,3
9. »	†	14,5	14,0	12,8	15,1		9. »			†	15,9	16,1	17,2
11. »		12,9	†	12,2	14,7		10. »				16,0	†	†
14. »		12,1		11,3	14,0		12. »				15,7		
17. »		12,0		10,6	12,7		14. »				15,6		
19. »		11,3		†	12,3		17. »				14,5		
21. »		11,3			11,2		19. »				14,8		
22. »		†			†		21. »				†		

und gingen sämtlich ein, die letzten 23 Tage nach Beginn der letzten Futterperiode. Auch in diesen Versuchen waren, wie in Versuchsreihe I, die bei der Extraktion in Lösung gegangenen Salze nachträglich wieder zugesetzt worden.

Versuchsreihe III. Extrahiertes Milchprotamol ohne Salze.

6 Mäuse (Serie Nr. 193—198) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem die extrahierten Salze nicht wieder zugesetzt wurden.

Sämtliche Tiere starben, die letzten nach 20 Tagen.

Tabelle III.

Datum	Serie Nr. 193–198 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 193–198 Gewicht von Maus					
	193	194	195	196	197	198		193	194	195	196	197	198
1910							1910						
28. XI.	21,4	21,6	17,3	19,4	19,4	17,7	10. XII	†	14,2	15,0	14,9	16,2	
30. »	19,8	20,8	17,2	19,3	18,8	17,5	11. »		†	14,6	15,2	16,3	
2. XII.	19,4	20,2	17,7	18,6	19,6	17,8	13. »			13,3	12,9	14,9	
4 »	18,1	18,3	16,9	18,2	19,1	16,7	15. »			12,7	†	14,2	
6. »	15,3	16,7	16,7	16,8	18,1	15,3	17. »			12,6		13,7	
8. »	14,9	15,7	16,7	15,8	16,9	14,2	18. »			†		†	
9 »	14,2	14,9	15,9	15,3	16,3	†							

In all diesen, wie auch in den späteren Versuchen frafsen die Mäuse das extrahierte Futter anfangs mit grofser Gier. Erst im weiteren Verlauf der Fütterung trat ein Nachlassen der Frefslust ein, vollständig verweigert wurde die Nahrung erst kurz vor dem Tode. Irgendwelche besonders charakteristische Krankheitserscheinungen konnten an den Tieren während der Versuche nicht entdeckt werden. Fast alle Tiere bekamen nach einiger Zeit ein struppiges Aussehen, bei einigen entwickelten sich borkige Veränderungen an der Haut, die wohl zum Teil durch eine starke Entwicklung von Läusen bedingt war, da die Tiere unsauberer wurden. Wohl alle Tiere hatten in den letzten Tagen vor dem Tode eine merkwürdige Haltung. Die Hinterextremitäten waren in eigenartiger Weise an den Leib gezogen. Dann und wann traten bei den Tieren beim Herausnehmen aus den Gläsern Streckkrämpfe der Extremitäten auf, die jedoch nie lange anhielten.

Der Sektionsbefund ergab makroskopisch keine besonderen Veränderungen.

Überblicken wir die in diesem Kapitel beschriebenen Versuchsreihen, so zeigen sie übereinstimmend, dafs Mäuse mit einer mit Alkohol und Äther genügend extrahierten Nahrung nicht am Leben erhalten werden können, während bei ungenügend extrahierter Nahrung Mäuse vollkommen munter bleiben, ja sogar an Gewicht zunehmen können. Dafs es nicht Mangel an Salzen in der Nahrung ist, was den Tod der Tiere herbeiführt, geht daraus hervor, dafs nachträglicher Zusatz der bei der Extraktion in Lösung gegangenen anorganischen Salze den Tod der Tiere nicht aufzuhalten vermag. Die Durchschnittslebensdauer von den 30 Versuchstieren betrug 13—14 Tage, länger als 25 Tage konnte kein Tier am Leben erhalten werden.

Kapitel III. Versuche mit extrahiertem Futter mit nachträglichem Zusatz von alkohol-ätherlöslichen Substanzen.

Durch die im vorigen Kapitel beschriebenen Versuchsreihen scheint ein wichtiges Bedenken, das bei der Deutung der Füt-

terungsversuche mit alkohol-äther-extrahierter Nahrung wohl erwogen werden mufste — nämlich die Salzverarmung der Nahrung, — beseitigt zu sein. Es sei hier schon im voraus erwähnt, dafs auch andere Tatsachen, auf die später einzugehen sein wird, im gleichen Sinne sprechen.

Weiterhin schien es nun nötig, zu zeigen, dafs ein extrahiertes Futter durch die tagelange Behandlung mit Alkohol und Äther auch sonst keine Veränderung erleidet, die es zur Ernährung untauglich macht. Dies war dann erwiesen, wenn es durch Zusatz von alkohol äther- oder ätherlöslichen Substanzen zu dem extrahierten Futter gelang, die Tiere dauernd am Leben zu erhalten. Zur Prüfung dieser Frage schien es am nächstliegenden, die bei der Darstellung des lipoidfreien Futters gewonnenen Extrakte zu verwenden. Über derartige Versuche habe ich in der früheren Arbeit[1]) berichtet. Bei der Wichtigkeit gerade dieser Versuche für die ganze Frage der lipoidfreien Ernährung habe ich jedoch eine Wiederholung für unbedingt nötig erachtet.

Versuchsreihe IV. Extrahiertes Milchprotamol plus Extrakte.

6 Mäuse (Serie Nr. 13a—18a) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem nachträglich die extrahierten Stoffe wieder zugesetzt waren.

Sämtliche Tiere starben, das letzte nach 21 Tagen.

Tabelle IV.

Datum	Serie Nr. 13 a bis 18 a Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 13 a bis 18 a Gewicht von Maus					
	13 a	14 a	15 a	16a	17 a	18 a		13 a	14 a	15 a	16a	17 a	18 a
1909							1909						
20. I.	18,7	20,2	20,4	19,7	18,2	18,9	1. II.		†				17,0
22. »	18,2	19,7	20,3	18,4	17,7	19,2	3. »						13,5
24. »	17,2	19,2	19,8	17,5	17,0	18,7	5. »						13,5
25. »	16,7	18,4	18,8	16,3	16,0	17,7	7. »						12,0
28. »	14,5	16,5	17,0	14,0	14,0	15,9	9. »						11,7
30. »	†	15,8	16,0	†	†	16,4	10. »						†
31. »			†										

[1]) a. a. O.

Die Versuchsreihe zeigt somit ein völlig anderes Ergebnis als analoge Versuche meiner früheren Arbeit[1]), in denen Mäuse mit extrahiertem Futter, dem die extrahierten Stoffe nachträglich wieder zugesetzt worden waren, noch zu einer Zeit am Leben und völlig munter waren, zu welcher mit extrahiertem Futter allein ernährte Tiere sämtlich eingegangen waren. Sollte die Differenz der Versuchsresultate bewirkt sein durch die in den jetzigen Versuchen ungleich längere Extraktionsdauer, d. h. durch eine bei dem tagelangen Verweilen der extrahierten Stoffe in dem siedenden Alkohol an ihnen eintretende Veränderung, so dafs das nachträglich zugesetzte Extrakt seine Wirksamkeit verloren hatte? An eine solche Möglichkeit war jedenfalls zu denken. Weifs man doch von gewissen Phosphatiden, dafs sie durch siedenden Alkohol zersetzt werden! Eine andere Möglichkeit, die den verschiedenen Ausfall der Versuche erklärt hätte, wäre die gewesen, dafs das Futter durch die tagelange Extraktion in einer anderen Weise so verändert wurde, dafs es für Mäuse unbrauchbar war.

Diese Frage mufste sich dadurch entscheiden lassen, dafs man bei der Darstellung von alkohol-äther- oder ätherlöslichen Substanzen, die dem axtrahierten Futter zugesetzt werden sollten, höhere Temperaturen nach Möglichkeit vermied. Gelang es durch Zusatz solcher Extrakte zu extrahiertem Futter Tiere am Leben zu erhalten, so konnte das extrahierte Futter selbst bei der Darstellung keine stärkeren Veränderungen erlitten haben.

Für die Bereitung von Alkohol-Äther- oder Ätherextrakten unter Vermeidung höherer Temperaturen erschien es nun zweckmäfsig, von Nahrungsmitteln auszugehen, die einen hohen Gehalt an Lipoiden haben. Die in Alkohol und Äther löslichen Stoffe brauchten ja durchaus nicht dem ursprünglichen Futter entnommen zu sein, es mufste lediglich festgestellt sein, dafs die durch ihren hohen Lipoidgehalt sich auszeichnenden Nahrungsmittel die zum Leben notwendigen derartigen Körper alle enthielten. Das war sicher dann der Fall, wenn man mit dem betreffenden Nahrungsmittel allein oder zusammen mit extra-

1) a. a. O.

hiertem Futter Mäuse am Leben erhalten konnte. Ich versuchte zuerst Eigelb.

Versuchsreihe V. Extrahiertes Milchprotamol plus Eigelb.

6 Mäuse (Serie Nr. 67—72) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, das mit frischem Eigelb verrieben wurde. Auf 30 g extrahiertes Futter kommt 1 Eigelb. Die Futterportionen werden täglich frisch hergestellt.

Tabelle V.

Datum	Serie Nr. 67—72 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 67—72 Gewicht von Maus					
	67	68	69	70	71	72		67	68	69	70	71	72
1910							1910						
1. IV.	16,2	19,8	18,8	17,5	16,0		18. IV.	20,5	22,2	20,0	19,5	20,5	20,5
3. »	17,7	20,5	18,8	17,5	18,5	20,0	20. »	19,5	22,2	20,0	19,7	21,5	21,0
4. »	18,5	21,5	20,0	18,5	20,0	20,0	22. »	19,2	21,7	20,5	19,5	21,5	20,5
7. »	18,5	22,2	20,1	19,0	19,2	19,6	24. »	19,5	21,5	19,8	19,0	22,0	20,5
9. »	18,7	22,0	20,0	18,5	18,5	20,0	26. »	19,7	21,7	20,7	20,2	22,5	21,0
11. »	18,9	21,8	20,5	19,7	18,6	20,0	2. V.	19,8	21,5	19,5	20,5	22,5	21,2
13. »	19,3	22,7	20,5	19,5	19,0	20,5	10. »	20,5	20,0	19,0	19,0	21,7	21,7
15. »	18,7	21,5	19,5	19,1	18,6	20,2	13. »	20,5	19,9	19,2	18,5	22,0	21,7

Alle Tiere munter.

Am Ende des auf 6 Wochen ausgedehnten Versuchs waren also noch alle Tiere am Leben, durchaus munter und hatten zum Teil stark an Gewicht zugenommen.

Mit dem Eigelb mußten somit alle unentbehrlichen, dem Futter durch die Extraktion entzogenen Stoffe nachträglich wieder zugesetzt worden sein.

Über weitere Versuche mit Zusatz von anderen lipoidhaltigen Nahrungsmitteln soll im nächsten Kapitel berichtet werden, da gewisse dabei gefundene Tatsachen eine besondere Besprechung erfordern.

Ich ging nun daran, mir aus dem Eigelb Extrakte, vorwiegend Ätherextrakte, zu bereiten. Ich verrieb Eigelb mit trockenem Brot — bei der Extraktion kamen dann freilich auch die entsprechenden löslichen Substanzen des Brotes in das Ex-

trakt, was jedoch für diese Frage zunächst gleichgiltig erschien —, und trocknete das ganze bei 40—50°. Dann digerierte ich das Eigelbbrot mit Alkohol bei ca. 50°, filtrierte und wiederholte die Prozedur mehrmals. Dann wurde das Eigelbbrot getrocknet und in einem Soxhletschen Extraktionsapparat 1—2 Tage mit Äther extrahiert. Das Filtrat des alkoholischen Extraktes wurde im Vakuum zur Trockne gebracht, der Rückstand mit Äther aufgenommen und mit dem eingeengten Ätherextrakt vereinigt.

Die vereinigten Extrakte wurden dann dem extrahierten Milchprotamol zugesetzt. Nach der Verjagung des Äthers wurde das Futter zur Entfernung der letzten Spuren Äther mit Wasser angerührt, dann getrocknet.

Versuchsreihe VI. Extrahiertes Milchprotamol plus Broteigelbextrakt.

6 Mäuse (Serie Nr. 187—192) wurden mit extrahiertem Milchprotamol ernährt, dem ein auf die oben beschriebene Weise dargestelltes Extrakt aus Eigelbbrot zugesetzt war.

Tabelle VI.

Datum	Serie Nr. 187—192 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 187—192 Gewicht von Maus					
	187	188	189	190	191	192		187	188	189	190	191	192
1910							1910						
7. XI.	18,6	19,4	17,0	19,5	18,4	19,0	9. XII.	14,4	16,8	12,7	15,3	12 6	19,5
9. »	18,8	18,5	17,4	19,8	18,2	18,4	12. »	14,5	17,2	12,5	15,0	11,3	19,5
11. »	17,0	17,5	16,5	18,4	18,0	18,3	14. »	14,3	16,6	12,3	14,0	10,0	20,3
14. »	17,7	18,2	17,1	19,6	17,4	19,0	16. »	17,2	16,2	13,2	16,2	†	21,2
16. »	18,1	18,2	16,3	18,8	17,3	19,0	18.	18,7	16,7	13,3	18,0		22,0
18. »	16,5	17,7	15,7	19,3	16,8	17,1	20. »	19,1	15,6	13,8	18,1		21,5
21. »	17,0	17,5	15,7	19,3	17,3	17,5	22. »	18,7	15,4	13,5	19,9		22,0
23.	16,6	17,6	15,3	18,9	16,4	17,8	24. »	18,7	15,0	13,0	19,9		22,0
25. »	16,8	18,6	15,4	18,9	16,3	17,9	26. »	18,6	14,0	12,6	20,1		22,1
27. »	15,3	17,7	14,7	17,6	15,2	17,7	28. »	18,7	13,5	12,1	20,0		22,5
29. »	15,2	17,7	15,0	16,3	15,0	18,1	30. »	18,5	13,5	12,3	20,1		23,0
1. XII.	15,6	17,0	14,4	15,7	13,3	17,6	3. I. 11.	18,2	13,2	12,0	20,3		22,6
3. »	14,7	16,9	14,3	15,8	12,7	18,0	5. »	18,5	†	12,1	20,3		23,2
5. »	14,9	16,8	14,0	15,2	12,8	19,5	8. »	19,2		11,2	22,7		22,8
7. »	14,3	16,7	13,3	15,5	12,8	20,0	11. »	18,7		11,4	22,8		22,5

Bei Abbruch des Versuches alle noch lebenden Tiere munter, auch Tier Nr. 189 trotz starker Abmagerung.

Von den 6 Tieren starb eines nach $5\frac{1}{2}$ Wochen, eines nach 9 Wochen, die andern waren am Abschluss des auf über 9 Wochen ausgedehnten Versuchs noch alle munter, eines hatte an Gewicht erheblich abgenommen, andere gut zugenommen.

Weitere Untersuchungen machte ich dann mit Extrakten, die aus reichlich mit Milch versetztem und getrocknetem Weizenmehl, sowie aus Kalbshirn dargestellt waren.

Versuchsreihe VII. Extrahiertes Milchprotamol plus Extrakt aus mit Milch versetztem Weizenmehl.

6 Mäuse (Serie Nr. 199—204) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem Alkohol-Äther-Extrakte aus mit Milch versetztem Weizenmehl zugesetzt waren.

Die Darstellung der Extrakte erfolgte in folgender Weise: Weizenmehl wurde mit gleichen Gewichtsteilen Vollmilch zu einem Teig angerührt, der Teig bei ca. 50° schnell getrocknet und zu einem groben Pulver zermahlen. Das Pulver wurde dann mit 95% Alkohol mehrmals bei einer Temperatur von ca. 50° digeriert, dann filtriert; die jeweiligen Filtrate wurden im

Tabelle VII.

Datum	Serie Nr. 199—204 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 199—204 Gewicht von Maus					
	199	200	201	202	203	204		199	200	201	202	203	204
1910							1913						
2. XII.	21,4	22,7	21,7	20,9	21,1	22,0	1. I.	21,8	14,6	22,8	20,6	21,8	20,8
4. »	21,2	22,0	21,0	20,4	20 6	22,2	3. »	21,9	14 2	22,8	21,3	22,3	21,0
6. »	21,1	20,6	20,3	19,0	20,4	21,2	5. »	20,3	13,5	21,4	21,0	21,6	19,3
8. »	21,2	20,3	20,3	17,8	19,7	20,4	7. »	20,1	12,6	22,2	20,4	21,8	18,6
10. »	21,0	18,8	19,8	17,2	19,4	19,7	9. »	19,8	†	22,1	20,3	21,7	18,3
13. »	20,4	17,6	19,1	16,6	19,2	17,4	11. »	19,4		21,8	19,5	21,2	17,3
15. »	21,2	18,3	19,5	14,8	19,6	17,2	13. »	17,3		19,6	17,0	19,0	15,6
17. »	21,8	19,1	21,5	15,8	20,8	19,1	15. »	16,0		18,6	17,5	18,0	14,5
19. »	22,1	19,3	22,5	16,9	22,3	19,4	17. »	17,3		20,0	18,7	19,8	16,3
21. »	21,5	17,1	23,0	17,0	21,0	19,9	19.	15,5		18,0	16,3	17,5	14,2
23. »	22,0	16,1	21,7	17,0	21,2	20,6	21. »	17,0		19,8	16,2	18,7	16,5
25.	21,7	16,1	22,0	18,0	21,0	21,1	23 »	18,7		21,7	17,6	20,9	14,8
27. »	21,0	16,1	21,9	18,1	21,0	21,6	25. »	19,7		23,0	18,9	20,6	15,7
29.	21,5	14,8	22,3	20,0	21,5	21,3	27.	20,8		22,4	22,0	21,7	17,2
31. »	22,0	15,2	22,5	20,3	21,6	21,7	28. »	21,0		23,0	22,2	21,2	18,2

Alle Tiere bei Abbruch des Versuches munter.

Vakuum zur Trockne gebracht und mit Äther aufgenommen. Das mehrmals mit Alkohol behandelte Milchmehlpulver wurde nach dem Trocknen im Soxhletschen Apparat 1—2 Tage mit Äther extrahiert. Das Ätherextrakt wurde dann mit dem in Äther aufgenommenen Rückstand des alkoholischen Extraktes vereinigt und die vereinigten Extrakte dem extrahierten Milchprotamol zugegeben, der Äther verjagt und das Futter durch Einweichen in Wasser von den letzten Spuren Äther befreit, dann getrocknet. Auf 100 g extrahiertes Milchprotamol kamen Extrakte aus ca. 300 g Milchmehlpulver.

Sämtliche Tiere mit Ausnahme von einem Tier, das nach $5^1/_2$ Wochen aus unbekannten Gründen starb, waren am Schlufs des Versuches, der 8 Wochen dauerte, munter.

Versuchsreihe VIII. Extrahiertes Milchprotamol plus Kalbshirnextrakt.

6 Mäuse (Serie Nr. 211—216) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem nachträglich Ätherextrakt aus Kalbshirn zugesetzt war.

Darstellung des Kalbshirnextraktes: Mehrere Kalbshirne wurden frisch nach dem Schlachten durch die Fleischmaschine geschickt, dann mit absolutem Alkohol viele Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt, dann

Tabelle VIII.

Datum	Serie Nr. 211—216 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 211—216 Gewicht von Maus					
	211	212	213	214	215	216		211	212	213	214	215	216
1910							1911						
30. XII.	23,0	24,0	21,0	23,3	21,7	20,0	27. I.	24,6	23,6	23,2	24,3	22,0	17,7
1. I. 11.	23,8	23,7	21,8	23,3	21,4	21,0	30. »	24,6	24,3	23,4	24,6	22,2	19,5
3. »	22,8	22,5	21,3	22,8	21,2	20,5	1. II.	23,5	23,0	22,7	24,0	21,9	18,3
4. »	23,8	24,0	22,3	23,6	22,2	21,8	3. »	24,7	24,0	23,7	25,0	23,9	20,0
6. »	22,5	23,5	22,3	22,7	21,8	20,4	4. »	25,2	24,3	23,6	25,1	21,2	20,2
8. »	22,3	23,3	22,8	22,5	21,5	21,3	6. »	24,3	23,5	22,8	24,7	23,3	19,5
11. »	22,2	23,3	22,7	22,1	20,8	20,0	8. »	24,4	23,6	22,6	25,0	23,7	19,8
13. »	20,3	21,3	22,0	21,6	19,3	18,5	10. »	24,5	22,0	23,2	24,8	23,5	19,5
15. »	19,7	20,3	21,2	19,3	17,9	18,4	12. »	25,8	22,2	23,1	25,8	24,7	20,0
17. »	19,4	20,4	20,5	18,6	17,0	18,0	14. »	25,7	22,5	22,5	24,9	24,2	19,6
20. »	18,0	18,5	18,8	16,6	16,7	16,5	16. »	25,6	22,0	22,6	25,0	24,5	19,8
21. »	20,6	21,0	21,6	19,8	18,7	19,0	17. »	25,0	21,6	22,1	24,4	23,6	19,1
23. »	24,0	22,5	22,5	21,7	21,0	19,3	20. »	25,4	22,2	23,4	26,0	24,3	19,5
25. »	23,3	22,5	23,3	22,3	20,0	18,5	22. »	25,0	22,9	23,4	26,1	24,6	19,7

Alle Tiere in vorzüglicher Verfassung.

filtriert und die Prozedur mehrmals mit frischem Alkohol wiederholt. Die alkoholischen Filtrate wurden im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand mit Äther aufgenommen. Die mehrmals mit Alkohol extrahierte Hirnsubstanz wurde getrocknet und dann im Soxhletschen Extraktionsapparat 1—2 Tage mit Äther extrahiert. Das ätherische Extrakt wurde nach dem Einengen mit dem in Äther aufgenommenen Rückstand des alkoholischen Extraktes vereinigt und die vereinigten Extrakte dem extrahierten Milchprotamol zugegeben, dann das Futter wie in der für die Versuchsreihe VII beschriebenen Weise für den Versuch fertig gemacht. Auf zirka 500 g extrahiertes Milchprotamol kamen Extrakte aus 2—3 Kalbshirnen.

Sämtliche 6 Tiere waren am Ende des 54 Tage dauernden Versuches noch in vorzüglicher Verfassung.

Überblick über die Versuchsreihen VI—VIII.

Blicken wir kurz auf die drei zuletzt mitgeteilten Versuchsreihen zurück: In ihnen waren 18 Mäuse mit einem durch Extraktion mit Alkohol und Äther von den Lipoiden völlig befreiten Futter ernährt worden, dem nachträglich ätherlösliche Substanzen aus verschiedenen Stoffen zugesetzt worden waren. Mit Ausnahme von 3 Tieren, die nach der 5. Woche starben, waren alle Tiere am Ende der 65, 57 und 53 Tage währenden Versuche noch am Leben. Die beigegebenen Tabellen, auf denen das Gewicht der Tiere verzeichnet ist, erfordern noch eine kurze Besprechung. Aus ihnen geht hervor, dafs die Gewichte häufig starken Schwankungen unterworfen waren. Ferner hatten einige Tiere am Ende der Versuche erheblich an Gewicht abgenommen, die Mehrzahl hatte zugenommen. Eine exakte Erklärung läfst sich natürlich bei der an und für sich erheblichen Schwierigkeit derartiger Fütterungsversuche nicht geben. Nehmen doch beispielsweise auch bei einem Futter, das sich sonst immer als ausreichend für Mäuse erwiesen hat, einzelne Tiere ohne ersichtlichen Grund ab. Es scheint mir jedoch bei diesen Versuchen eines zu beachten zu sein, nämlich die von einigen der alkoholätherlöslichen Stoffe bekannte aufserordentliche Labilität. Es wäre denkbar, dafs bei der Darstellung der einzelnen Futterportionen kleine Differenzen in den Manipulationen eine Rolle spielen, in dem Sinne, dafs die einzelnen Futterportionen nicht von gleicher Güte sind.

Es war nämlich aus äufseren Gründen unmöglich, das ganze für einen Versuch von beispielsweise 8 Wochen Dauer reichende Futter auf einmal herzustellen, sondern es wurde dasselbe in jeweils für einige Wochen genügenden Mengen bereitet.

Stellen wir schliefslich die zuletzt aufgeführten Versuchsreihen den Versuchsreihen I—III gegenüber, in denen Mäuse mit extrahiertem Futter allein ernährt worden und spätestens nach 25 Tagen eingegangen waren, so scheint kaum eine andere Deutung möglich als die, dafs der Tod dieser Tiere in der Tat auf das Fehlen gewifser alkohol-ätherlöslicher Stoffe in der Nahrung zurückzuführen ist. Dafs er nicht Folge eines Mangels an anorganischen Salzen ist, dafür sprechen die Versuche des Kapitels II. Aber auch die eben besprochenen Versuche lassen sich in diesem Sinne verwerten. Bei der Herstellung der Alkohol-Ätherextrakte aus Eigelbbrot, Milchmehlpulver und Hirn kamen nur relativ kleine Alkoholmengen zur Verwendung. Mit dem Alkohol konnten also nur kleine Mengen von Salzen in Lösung geben. Überdies wurden die alkoholischen Extrakte stets zur Trockne gebracht und der Rückstand mit Äther aufgenommen. So waren die schliefslich zugesetzten Körper nur in Äther gelöst. Irgendwelche nennenswerte Mengen von Salzen können also — selbst unter Berücksichtigung der merkwürdigen Eigenschaften einzelner Lipoide, manche sonst in Äther unlösliche Körper durch ihre Gegenwart löslich zu machen — mit den Ätherextrakten dem Futter nicht zugesetzt worden sein. Mithin kann die Wirkung des Extraktzusatzes in den Versuchen VI—VIII nicht auf die in den Extrakten vielleicht enthaltenen kleinen Mengen von Salzen bezogen werden.

Wenn nach den mitgeteilten Versuchen und den anschliefsenden Erörterungen der Schlufs sich aufdrängt, dafs gewisse alkohol-ätherlösliche Substanzen für die Ernährung von Mäusen unentbehrlich sind, so möchte ich diesen Schlufs nicht ohne eine Einschränkung aufrechterhalten. Die Untersucher, die sich mit dem Studium der Lipoide beschäftigten, haben, wie schon kurz erwähnt, an diesen Körpern Eigenschaften gefunden, die man in der Chemie bisher kaum kannte. Die Lipoide

haben eine ganz aufserordentliche Fähigkeit, auf die Löslichkeit anderer Stoffe einzuwirken und ihnen Löslichkeit in den spezifischen Lipoidlösungsmitteln zu verleihen, in denen die Stoffe sonst gänzlich unlöslich sind. So wäre es nicht undenkbar, dafs gemeinschaftlich mit den Lipoiden irgendwelche unbekannte lebenswichtige Stoffe in Lösung gehen und dafs so die Lipoide gewissermafsen zu Trägern für diese Stoffe würden, dafs mit anderen Worten bei der Entfernung von Lipoiden die unbekannten Körper mit entfernt und bei Zusatz von Lipoiden mit diesen zugesetzt werden. Ein Hinweis auf eine derartige Möglichkeit erscheint notwendig, solange es nicht gelingt, die Versuche mit chemisch reinen Körpern durchzuführen.

Kapitel IV.
Versuche mit extrahiertem Futter plus Milchfett.
Versuche mit extrahiertem Futter plus Milch.

In den bisher mitgeteilten Versuchen war die Herstellung der lipoidfreien Nahrung durch Extraktion mit Alkohol und Äther erfolgt. Diese Prozedur hat nun gleichzeitig die Entfernung alles Fettes zur Folge, und es war zu berücksichtigen, dafs diese Versuche mit lipoidfreier Nahrung gleichzeitig Versuche mit fettfreier Nahrung waren. Bevor also die Frage nach der Bedeutung der einzelnen Lipoide studiert werden konnte, war zu untersuchen, ob nicht vielleicht gerade den Neutralfetten eine gewisse Bedeutung zukommt. Die Besprechung der Versuche mit reinen Neutralfetten, sowie mit einigen Repräsentanten der unter den Lipoiden zu unterscheidenden Gruppen soll im nächsten Kapitel erfolgen. Zunächst möchte ich über einen ursprünglich mehr zu orientierenden Zwecken angestellten Versuch berichten, der, wie sich zeigen wird, eine Reihe neuer interessanter Gesichtspunkte ergab. Ausgehend von der Überlegung, dafs wir in dem Milchfett eine für den Tierkörper offenbar äufserst zweckmäfsige Mischung aller möglichen Fette haben, in welcher aufserdem noch kleine Mengen von Lezithin, Cholesterin etc. enthalten sind, versuchte ich die Lipoide einer Nahrung durch Milchfett in Gestalt von Butter zu ersetzen. Durch Verfütterung einer

solchen Nahrung an Mäuse mufste man Aufschlufs darüber bekommen, ob in dem Milchfett lebenswichtige Lipoide in nennenswerter Menge enthalten sind. Es erschien von vornherein klar, dafs, falls es gelänge, mit einem solchen Futter Mäuse am Leben zu erhalten, sich zunächst keine weiteren Schlüsse daraus ziehen lassen würden. Denn die Butter enthält neben den alkohol-ätherlöslichen Stoffen nicht zu vernachlässigende Mengen von Casein, Salzen etc., d. h. die Butter stellt kein reines Fett- bezw. Fett-Lipoidgemisch dar. Wenn dagegen das Umgekehrte eintrat, dafs die Butter die aus einer Nahrung extrahierten Stoffe nicht zu ersetzen vermochte, so mufste das wichtige Aufschlüsse in verschiedener Richtung geben.

Es wurden zwei derartige Versuche ausgeführt. In dem einen Versuch wurde zu extrahiertem Milchprotamol eine etwas gröfsere Menge an Butter zugesetzt, als das ursprüngliche Milchprotamol an alkohol ätherlöslichen Stoffen enthalten hatte, d. h. die alkohol-ätherlöslichen Substanzen eines Futters wurden durch einen Überschufs von Milchfett ersetzt. Im zweiten Versuch wurde die doppelte Menge Butter zugesetzt.

Versuchsreihe IX und X. Extrahiertes Milchprotamol plus Butter.

In Versuchsreihe IX wurden 6 Mäuse (Serie Nr. 61—66) mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 100 g extrahiertes Milchprotamol 10 g Butter zugesetzt wurden. In Versuchsreihe X wurden 6 Mäuse (Serie Nr. 73—78) mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 100 g extrahiertes Milchprotamol 20 g Butter zugesetzt waren.

Darstellung der Futterportionen: Das extrahierte Milchprotamol wurde auf dem Wasserbad in einer Porzellanschale gelinde erwärmt, die Butter in kleinen Stückchen zugegeben, schmelzen gelassen und unter ständigem Umrühren gleichmäfsig im Futter verteilt.

Sämtliche Tiere der Versuchsreihe IX und X starben. Die Tiere des Versuchs X lebten etwas länger als die von Versuch IX. Länger als 28 Tage konnte kein Tier am Leben erhalten werden.

Tabelle IX.

Datum	Serie Nr. 61—66 auf 100 g extr. Milchpr. 10 g Butter Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 61—66 auf 100 g extr. Milchpr. 10 g Butter Gewicht von Maus					
	61	62	63	64	65	66		61	62	63	64	65	66
1910							1910						
25. III.	18,8	19,5	17,2	16,5	18,5	18,2	3. IV.	14,3			13,7	15,1	13,0
26. »	19,3	19,7	16,8	16,8	18,7	18,1	5. »	12,5			†	13,5	—
28. »	17,7	18,8	15,0	17,0	18,5	17,2	6. »	—				—	†
30. »	16,0	17,2	13,4	15,2	17,7	16,2	7. »	11,2				12,5	
31. »	—	—	†	—	—	15,0	8. »	†				—	
1. IV.	15,5	15,4		13,7	16,5	14,8	9. »					11,5	
2. »	14,5	†		—	—	—	11. »					†	

Tabelle X.

Datum	Serie Nr. 73—78 auf 100 g extr. Milchpr. 20 g Butter Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 73—78 auf 100 g extr. Milchpr. 20 g Butter Gewicht von Maus					
	73	74	75	76	77	78		73	74	75	76	77	78
1910							1910						
4. IV.	18,7	18,2	18,8	18,5	19,2	17,3	20. IV.	11,7	12,5	13,0	15,0	11,5	12,5
5. »	16,8	17,9	16,5	17,3	16,8	16,5	22. »	11,0	11,7	11,7	14,5	11,2	11,2
7.	15,2	17,7	15,7	16,8	16,6	15,7	25. »	—		11,2	13,7	11,6	†
9. »	15,5	17,2	15,7	16,2	16,3	15,5	26. »	†		†	12,5	†	
11. »	14,6	16,3	15,5	16,6	16,0	15,2	28. »				11,8		
13. »	14,2	15,5	15,4	16,2	15,8	15,0	30. »				11,0		
15. »	13,3	14,5	14,2	15,5	13,5	14,2	1. V.				†		
18. »	13,0	13,9	13,7	14,5	12,5	13,2							

Die beiden Versuche scheinen mir nach zwei Richtungen hin von Bedeutung. Einmal geht aus ihnen hervor, dafs gewifse lebenswichtige, alkohol ätherlösliche Stoffe in dem Milchfett entweder nur in sehr geringer Menge vorhanden sind oder ganz oder teilweise fehlen; ferner sprechen die Versuche mit aller Sicherheit dafür, dafs unter den ätherlöslichen Stoffen den Fetten eine ausschlaggebende Bedeutung in diesem Sinne nicht zukommt. Denn trotzdem das Milchfett eine — man darf vielleicht sagen — ideale Mischung aller möglichen Fette darstellt, in der insbesondere auch die Fette mit niederen Kohlenstoffzahlen vertreten sind, vermag es die alkohol-ätherlöslichen Stoffe einer für Mäuse ausreichenden Nahrung nicht zu vertreten.

Nach Feststellung dieser Tatsachen galt es zu untersuchen, ob die betreffenden lebenswichtigen Stoffe, die im Milchfett fehlten, in dem übrigen Teil der Milch vorhanden waren. Denn dafs die Milch solche Körper überhaupt enthält, geht daraus hervor, dafs man Mäuse mit Milch allein dauernd am Leben erhalten kann.

Vor Inangriffnahme dieser Frage habe ich noch mehrere Versuche ausgeführt, die Aufschlufs geben sollten darüber, wieviel Milch einer von den Lipoiden befreiten Nahrung zugefügt werden mufste, damit diese die zur Ernährung notwendige Menge an Lipoiden enthielt. Ich fütterte in mehreren Serien Mäuse mit extrahiertem Milchprotamol, dem verschieden grofse Mengen Milch zugesetzt waren.

Verwandt wurde für die im folgenden angeführten Versuche mit Milch ausschliefslich (bei 70—72°) pasteurisierte Vollmilch, wie sie von der Dampfmolkerei in den Handel gebracht wurde. Vorher hatte ich mich in mehreren Versuchsreihen davon überzeugt, dafs Mäuse bei ausschliefslicher Ernährung mit solch pasteurisierter Milch vorzüglich gedeihen.

Versuchsreihe XI. Extrahiertes Milchprotamol plus Milch.
(Auf 100 g extr. Milchpr. 75 ccm Milch.)

6 Mäuse (Serie Nr. 85—90) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 100 g trockenes extrahiertes Milchprotamol 75 ccm Milch zugesetzt wurden. Die Trocknung des Futters erfolgte unter Rühren in einer Porzellanschale auf dem siedenden Wasserbad im Verlaufe von wenigen Minuten.

Alle Tiere gingen unter fortschreitender Gewichtsabnahme ein, 3 starben im Verlauf der ersten 3 Wochen, die übrigen 3 waren nach 41 Tagen alle tot.

In diesem Versuch waren also die Tiere wesentlich länger am Leben als mit extrahiertem Futter allein, es konnte jedoch kein einziges am Leben erhalten werden. Es erschien möglich, dafs die Menge der verwandten Milch und damit der zugesetzten Lipoide zu

Tabelle XI.

Datum	Serie Nr. 85—90 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 85—90 Gewicht von Maus					
	85	86	87	88	89	90		85	86	87	88	89	90
1910							1910						
16. V.	20,6	19,5	19,0	19,5	17,0	21,5	6. VI.		13,2		10,8	11,0	
18. »	20,6	18,7	18,2	19,2	16,8	20,0	8. »		14,3		10,7	11,2	
21. »	19,3	18,7	17,2	18,8	16,0	20,0	10. »		14,5		†	10,7	
23. »	17,7	18,5	16,8	18,2	15,7	19,5	11. »		14,5			10,2	
25. »	15,8	17,2	15,4	17,3	14,2	17,2	14. »		13,9			†	
27. »	14,2	15,7	14,3	16,0	13,6	16,5	15. »		15,3				
29. »	13,3	15,3	13,2	14,8	13,5	15,0	19. »		13,2				
30. »	†	14,2	12,8	14,9	13,0	14,9	21. »		12,8				
31. »		13,2	†	14,0	12,5	†	23. »		12,0				
2. VI.		12,7		12,7	12,2		25. »		†				
4. »		12,7		12,0	11,7								

gering war. Ich machte daher einen weiteren Versuch mit wesentlich gröfseren Mengen von Milch.

Versuchsreihe XII. Extrahiertes Milchprotamol plus Milch.

(Auf 100 g extr. Milchpr. 200 ccm Milch.)

6 Mäuse (Serie Nr. 127—132) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 100 g extrahiertes Milchprotamol 200 ccm Milch zugesetzt worden waren.

Tabelle XII.

Datum	Serie Nr. 127—132 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 127—132 Gewicht von Maus					
	127	128	129	130	131	132		127	128	129	130	131	132
1910							1910						
10. VII.	18,6	19,3	21,3	17,2	16,6	21,2	1. VIII.	21,3	20,6	20,9	18,7	17,3	22,5
12. »	22,0	21,2	22,3	19,2	18,2	21,7	3. »	21,7	20,5	20,8	18,0	17,6	21,3
14. »	22,2	21,4	22,0	19,5	18,0	22,1	5. »	20,6	21,0	21,2	17,8	15,5	22,0
16. »	21,1	22,0	22,0	18,3	19,0	22,0	8.	20,4	20,3	21,3	17,5	15,3	21,5
18. »	22,0	22,3	21,5	18,7	19,1	22,0	10. »	20,5	20,4	21,2	18,7	16,0	21,7
20. »	21,5	21,0	20,8	18,7	18,8	22,7	12. »	20,7	18,3	21,3	18,0	15,8	21,2
22. »	21,2	21,2	21,5	18,7	19,0	21,9	14. »	21,3	19,2	21,0	18,3	14,8	22,0
24. »	21,1	20,3	21,4	17,5	18,8	22,8	16. »	21,4	21,4	22,2	18,7	13,2	21,3
26. »	21,5	20,1	22,0	17,7	17,8	22,3	18. »	21,5	21,2	22,6	18,3	13,2	21,4
29. »	22,5	21,0	21,5	18,5	18,5	22,3	20.	21,7	22,0	22,3	19,2	12,6	21,8
30. »	22,0	20,7	21,4	17,3	16,5	21,5							

Bei Abbruch des Versuches alle Tiere munter bis auf Nr. 131, dieses krank.

Die Milch war bei ca. 55° im Vakuum eingeengt, dann dem Futter zugesetzt, das ganze bei ca. 55—60° getrocknet worden.

Alle 6 Tiere waren nach 41 Tagen, um welche Zeit der Versuch abgebrochen wurde, noch am Leben. Alle Mäuse bis auf eine, die — offenbar intercurrent erkrankt — stark an Gewicht abgenommen hatte, hatten erheblich an Gewicht zugenommen.

Der verschiedene Ausfall der Versuche XI und XII kann nur erklärt werden durch die Annahme, dafs hier die quantitativen Verhältnisse eine Rolle spielen. Das Futter in Versuch XI (auf 100 g extrahiertes Futter 75 ccm Milch) enthielt offenbar weniger als das Minimum von Lipoiden, das Mäuse zum Leben benötigen, während in dem Futter von Versuch XII die genügende Menge vorhanden war.

Es war zwar noch an die Möglichkeit zu denken, dafs eine kleine Verschiedenheit in der Herstellung des Futters für die Versuche XI und XII bezüglich des Resultats eine Bedeutung hätte. In Versuch XI war nämlich das mit Milch versetzte Futter auf dem siedenden Wasserbad getrocknet worden, während in Versuch XII bei der Bereitung des Futters höhere Temperaturen vermieden worden waren. Es konnte nun unter der Einwirkung der höheren Temperaturen eine Veränderung an den mit der Milch zugesetzten Lipoiden eingetreten und so die Nahrung für Mäuse unverwertbar geworden sein. Ich möchte hier gleich vorwegnehmen, dafs Versuche, die ich zur Klärung dieser Frage anstellte, in der Tat zeigen, dafs die Milch unter längerer Einwirkung höherer Temperaturen gewisse Schädigungen erleidet. Die Schädigungen sind jedoch, wie aus den später anzuführenden Versuchen hervorgeht, nicht derart, dafs aus ihnen der Ausfall des Versuchs XI zu erklären wäre. Somit bleibt für die Deutung des Versuchs XI die bereits oben gegebene Erklärung bestehen, dafs das Futter, welches bereitet wurde durch Zusatz von 75 ccm Milch zu 100 g extrahiertem Protamol, nicht das für Mäuse notwendige Minimum an Lipoiden enthielt.

Nachdem es gelungen war, Mäuse mit extrahierter Nahrung, der eine genügende Menge Milch (auf 100 g extrahiertes Milch-

protamol 200 ccm Milch) zugesetzt war, am Leben zu erhalten, studierte ich den Einfluss länger dauernden Erhitzens auf die Milch in analogen Versuchen mit extrahierter Nahrung, die mit erhitzter Milch versetzt war.

Versuchsreihe XIII. Extrahiertes Milchprotamol plus erhitzte Milch.
(Auf 100 g extrah. Milchpr. 200 ccm Milch.)

6 Mäuse (Serie Nr. 109—114) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 100 g trockenes extrahiertes Milchprotamol 200 ccm Milch zugesetzt wurden, die $^1/_2$ Stunde im siedenden Wasserbad gehalten war.

Von den 6 Tieren starben 3 innerhalb der ersten 4 Wochen, 1 nach 38 Tagen, 2 waren noch nach 6 Wochen am Leben, von diesen beiden hatte 1 stark an Gewicht abgenommen, 1 war auf seinem Gewicht geblieben und völlig munter.

Tabelle XIII.

Datum	Serie Nr. 109—114 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 109—114 Gewicht von Maus					
	109	110	111	112	113	114		109	110	111	112	113	114
1910							1910						
12. VI.	19,7	18,2	19,8	18,2	19,7	18,2	5. VII.	17,0		19,5			—
14. »	20,1	17,7	20,8	18,2	20,3	18,5	6. »	16,4		20,8			13,8
16. »	19,7	17,0	21,0	18,2	19,7	18,4	8. »	16,0		20,7			13,5
17. »	19,4	16,6	20,7	17,8	20,0	17,7	9. »	15,5		19,7			13,2
19. »	20,2	17,0	18,7	18,2	19,2	17,7	11. »	15,3		—			13,2
21. »	20,5	17,1	19,6	18,4	18,3	18,0	12. »	15,9		19,3			13,1
23. »	21,0	17,3	19,3	18,5	18,0	18,2	14. »	16,2		18,3			12,2
24. »	21,2	17,2	20,6	18,0	16,8	18,0	16. »	15,5		18,4			11,7
26. »	21,0	16,2	19,8	17,3	16,3	18,3	18. »	14,7		19,3			11,0
30. »	20,3	15,0	20,7	16,3	15,3	16,5	20. »	14,4		19,0			†
1. VII.	—	—	—*	—	†	—	22. »	14,7		19,1			
2. »	18,5	13,3	19,8	15,0		15,7	24. »	13,7		19,1			
4. »	—	†	—	†		14,0							

Von den beiden überlebenden Tieren Nr. 109 krank, Nr. 111 munter.

Versuchsreihe XIV. Extrahiertes Milchprotamol plus erhitzte Milch.

(Auf 100 g extrah. Milchpr. 200 ccm Milch.)

12 Mäuse [Serie Nr. 145—150 und Nr. 175a—180a[1])] wurden mit extrahiertem Michprotamol gefüttert, dem auf 100 g extrahiertes

Tabelle XIV.

Datum	Serie Nr. 145—150 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 175a—180a Gewicht von Maus					
	145	146	147	148	149	150		175a	176a	177a	178a	179a	180a
1910							1910						
12. VIII.	19,8	17,5	22,2	19,7	21,9	23,7	22. XI.	20,8	25,2	26,9	24,9	22,1	23,3
14. »	21,3	17,8	22,4	20,2	22,0	23,5	24. »	21,0	25,0	26,7	25,5	22,2	23,2
16. »	21,0	18,6	21,8	20,3	21,3	23,5	26. »	20,8	23,7	23,6	24,9	21,4	23,3
18. »	20,8	18,4	22,1	20,4	20,6	21,7	28. »	21,2	23,7	23,2	25,7	20,9	23,3
20. »	20,0	18,4	22,0	20,4	20,3	21,0	30. »	22,2	23,6	25,0	25,0	23,5	22,8
22. »	18,8	18,3	—	20,2	19,3	18,5	1. XII.	21,4	23,2	25,2	25,0	22,7	21,7
23.	18,8	17,5	20,7	20,0	19,1	17,7	4. »	21,5	23,0	24,7	25,6	22,8	22,6
25. »	16,0	17,0	19,2	20,3	17,5	17,0	6.	21,0	22,9	25,5	22,8	22,0	21,7
26. »	—	—	—	—	—	†	8. »	20,5	21,1	21,6	20,8	22,2	20,9
27. »	15,3	16,7	18,0	21,0	16,3		10. »	19,3	19,6	20,0	18,9	21,3	19,3
29. »	14,3	15,5	17,0	21,8	15,7		12. »	17,9	20,4	20,8	18,6	20,8	19,8
31. »	14,6	14,7	15,9	21,5	14,8		14.	16,4	19,0	19,7	17,5	19,4	19,3
2. IX.	15,0	13,7	15,0	20,5	†		16. »	15,4	17,2	19,0	16,7	18,1	18,6
4. »	14,5	12,7	†	21,0			18. »	15,5	†	19,3	16,4	17,5	18,4
6. »	14,0	12,5		20,0			19. »	15,7		19,0	16,5	18,3	18,7
8. »	†	†		19,0			20. »	15,0		17,0	†	18,4	17,7
10. »				19,0			22. »	15,1		17,0		19,1	17,2
12. »				18,3			24. »	14,0		17,3		20,5	17,2
14. »				17,0			26. »	13,4		15,5		21,5	16,6
16. »				18,4			28. »	15,5		16,9		21,7	16,7
18. »				18,4			30. »	16,0		17,5		22,7	17,3
21. »				18,0			1. I. 11	16,0		17,8		19,5	17,1
23. »				19,1			3. »	14,8		16,8		18,6	17,6
Überlebende Maus Nr. 148 noch völlig munter.							Überlebende Tiere noch munter.						

1) Während für Serie Nr. 145—150 das Futter in gröfseren, für mehrere Wochen reichenden Portionen bereitet wurde, wurden für Serie Nr. 175a—180a die jeweiligen Futtermengen täglich hergestellt, um dem eventuellen Einwand zu begegnen, dafs beim Ausfall der Versuche möglicherweise gewisse Zufälligkeiten, wie schlechte Beschaffenheit der Milch und dgl. eine Rolle spielten.

Milchprotamol 200 ccm Milch zugesetzt wurden, die 1 Stunde im siedenden Wasserbad gehalten war.

Darstellung des Futters für Versuch XIII und XIV: Das extrahierte Milchprotamol wurde in einer auf dem siedenden Wasserbad stehenden Porzellanschale mit der Milch zu einer dünnen Suppe angerührt, dann das Ganze unter ständigem Umrühren bis zur Teigkonsistenz eingedickt, dann der Teig in dünner Schicht ausgestrichen und getrocknet. Das Einengen der Suppe bis zur Teigkonsistenz nahm ca. 20 Minuten in Anspruch.

Von den 12 Tieren starben 7 innerhalb der ersten 4 Wochen, 5 waren noch nach 6 Wochen am Leben, davon hatten 3 stark an Gewicht abgenommen, 2 nur wenig oder gar nicht.

Die Versuchsreihen XIII und XIV haben somit ein von der Versuchsreihe XII völlig abweichendes Resultat ergeben. Die einzige Differenz in der Versuchsanordnung war die, dafs in der Versuchsreihe XII ungekochte (pasteurisierte) und in den Versuchsreihen XIII und XIV verschieden lang erhitzte Milch verwandt wurde. Somit müssen die Ergebnisse — bei Verwendung ungekochter Milch waren nach 6 Wochen noch alle Versuchstiere am Leben, bei Verwendung längere Zeit erhitzter Milch war um die gleiche Zeit über die Hälfte der Tiere eingegangen — durch die Annahme erklärt werden, dafs in den Versuchsreihen XIII und XIV die Milch durch das Kochen verändert worden war.

Auffallend erscheint an diesen Versuchen im Gegensatz zu den früheren, dafs hier kein gesetzmäfsiges Verhalten besteht. Während die Mehrzahl der Tiere im Verlaufe von 6 Wochen zu Grunde geht und von den überlebenden die meisten an Gewicht abnehmen, bleiben einzelne Tiere auf ihrem Gewicht und munter, selbst in Versuchen, die auf 8 Wochen ausgedehnt werden[1]). Was die Veränderungen der Milch durch das Erhitzen im siedenden Wasserbad anlangt, die im vorliegenden Fall die Minderwertigkeit des mit erhitzter Milch dargestellten Futters bedingten, so konnten wohl kaum die bekannten Veränderungen an den Eiweifskörpern etc. in Frage kommen, was aus folgender

1) Die Gewichtstabellen dieser Versuche enthalten der Übersichtlichkeit halber die Gewichte der Mäuse nur während der Dauer von 6 Wochen.

Überlegung sich erweisen dürfte: Es war gezeigt worden, dafs Mäuse mit einer lipoidfreien Nahrung nur dann am Leben erhalten werden können, wenn Lipoide oder lipoidhaltige Stoffe dieser Nahrung wieder zugesetzt werden. Eine solche Nahrung ist dann völlig ausreichend, d. h. sie enthält alle zum Leben notwendigen Stoffe. Wenn es nun gelingt, durch Zusatz genügender Mengen Milch zu einer lipoidfreien Nahrung Mäuse am Leben zu erhalten, so mufs die Wirkung des Milchzusatzes auf Rechnung der in der Milch enthaltenen Lipoide zu setzen sein, da ja alle andern lebenswichtigen Stoffe schon in der Nahrung vorhanden sind. Umgekehrt mufs, wenn Zusatz von erhitzter Milch bei der Mehrzahl der Tiere versagt, d. h. wenn die Mehrzahl der Tiere bei einer solchen Nahrung zugrundegeht, angenommen werden, dafs beim Kochen der Milch die Lipoide so verändert werden, dafs sie für die Mehrzahl der Versuchstiere nicht mehr brauchbar sind. Man müfste sich denn höchstens vorstellen, dafs durch das Erhitzen der Milch irgend welche andere Veränderungen vor sich gehen, infolge deren die mit erhitzter Milch versetzte Nahrung nach dem Trocknen schwerer verdaulich würde oder dergl.

Mit der gegebenen Deutung der Versuche XIII und XIV läfst sich jedoch schwer die Tatsache vereinbaren, dafs man mit gekochter Milch allein ebenso gut wie mit ungekochter, Mäuse am Leben erhalten kann, ja dafs sie sogar vortrefflich an Gewicht zunehmen. Derartige Versuche sind von pädiatrischer Seite aus wiederholt unternommen worden[1]). Ich selbst habe drei derartige Versuchsreihen mit je 6 Tieren angestellt und mich überzeugt, dafs Mäuse bei ausschliefslicher Ernährung mit ungekochter (pasteurisierter), wie mit 1 Stunde und $1^1/_2$ Stunden gekochter Milch sich durch 6 Wochen vorzüglich ernähren lassen. Sie nehmen durchweg gut an Gewicht zu. Angesichts dieser Resultate macht, wie erwähnt, die Deutung der Versuche mit extrahiertem Futter plus gekochter Milch erhebliche Schwierigkeiten. Man könnte auf folgende Weise eine Erklärung versuchen: Beim Kochen der Milch werden die Lipoide vielleicht

1) Vgl. Keller, Zeitschr. f. physik. u. diätet. Ther. VII, H. 2.

nur zum Teil so verändert[1]), dafs sie von den Mäusen nicht mehr verwertet werden können. Dann würde es einerseits verständlich sein, dafs Mäuse bei ausschliefslicher Ernährung mit gekochter Milch das zum Leben notwendige Minimum an Lipoiden bekommen, falls sie nur genügende Mengen von Milch zu sich nehmen. Anderseits könnte man sich vorstellen, dafs eine aus lipoidfreiem Futter plus Milch bereitete Nahrung in dem einen Falle — bei Verwendung ungekochter Milch — ausreicht, in dem anderen Falle — bei Verwendung gekochter Milch, die also der gegebenen Annahme entsprechend ärmer an verwertbaren Lipoiden wäre —, bei einem Teil der Versuchstiere versagt.

Diese Annahme konnte auf ihre Richtigkeit geprüft werden dadurch, dafs zu dem lipoidfreien Futter eine erheblich gröfsere Menge erhitzter Milch zugesetzt wurde, wie in den bisherigen Versuchen. In einer solchen Nahrung war dann vielleicht der Minimalbedarf der Mäuse an Lipoiden gedeckt, selbst wenn ein Teil derselben beim Kochen zerstört war.

Versuchsreihe XV. Extrahiertes Milchprotamol plus erhitzte Milch

(Auf 100 g extrahiertes Milchprotamol 400 ccm Milch.)

12 Mäuse (Serie Nr. 205—217 und Nr. 217—222) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 100 g trockenes extrahiertes Milchprotamol 400 ccm Milch zugefügt wurden, die 1 Stunde im siedenden Wasserbad gehalten war.

Die Herstellung des Futters erfolgte ebenso wie in den Versuchen XIII und XIV. Die Futterportionen wurden anfangs täglich, später in gröfseren, für je 3 Tage reichenden Mengen dargestellt. Um zu sehen, ob nicht die äufsere Beschaffenheit des Futters vielleicht einen Einflufs hätte auf die Frefslust der Mäuse, wurde es den Tieren mehrere Tage lang in noch teigiger Form, dann in völlig trockenem Zustande gereicht. Ein Unterschied liefs sich weder in der Frefslust noch im Verhalten des Gewichts finden.

Von den 12 Tieren starben 6 im Verlauf von 44 Tagen, von den überlebenden hatten 2 erheblich an Gewicht abgenommen, die übrigen zum Teil bedeutend zugenommen.

1) Nach Bordas und Raczkowsky tritt beim Erhitzen der Milch ein Verlust an Phosphatiden ein. Zit. nach Sommerfeld, Handbuch der Milchkunde. Wiesbaden 1909.

Tabelle XV.

Datum	Serie Nr. 205—210 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 217—222 Gewicht von Maus					
	205	206	207	208	209	210		217	218	219	220	221	222
1910							1911						
28. XII.	21,0	23,0	20,8	20,8	23,2	21,0	14. I.	19,1	19,2	20,5	19,6	20,2	18,1
30.	22,0	23,1	20,0	20,5	22,8	20,5	16. »	19,6	19,5	20,8	20,8	21,2	18,0
1911													
1. I.	21,3	23,3	18,5	20,2	22,3	20,3	18. »	20,2	19,3	20,9	20,3	20,5	19,3
3. »	21,1	24,2	19,5	20,5	23,7	21,0	20. »	19,1	18,7	20,2	20,0	19,8	18,8
6. »	21,0	25,2	18,7	20,6	23,6	21,6	22. »	19,7	18,4	20,3	21,2	22,3	18,7
9. »	20,2	25,3	18,9	19,3	22,2	21,2	24. »	19,4	17,3	19,9	20,8	19,8	18,7
12. »	18,2	26,0	18,7	18,8	21,3	21,3	26. »	18,8	16,2	19,6	20,0	19,7	18,5
14. »	17,2	25,7	18,3	19,8	21,7	20,8	28. »	18,8	16,0	19,3	19,4	19,4	18,8
16. »	16,3	25,9	18,3	20,3	21,5	20,5	31. »	19,2	14,5	19,0	18,8	19,3	18,8
18. »	16,3	26,1	16,3	19,3	20,5	18,8	3. II.	18,5	13,8	18,6	17,2	18,5	17,5
20. »	17,5	25,8	15,7	18,5	20,3	18,1	6. »	17,4	13,4	19,1	16,8	18,3	16,5
22. »	19,7	25,6	14,6	18,4	19,8	17,7	8. »	17,3	13,9	19,8	17,0	18,2	16,3
24. »	19,2	24,6	13,0	17,7	20,2	16,4	10. »	15,0	12,8	19,2	17,4	18,6	15,3
26. »	19,3	24,3	†	17,7	18,9	15,7	12. »	15,7	12,5	21,0	19,0	20,5	16 0
28. »	18,8	25,0		17,2	18,6	15,5	14. »	15,0	12,5	21,7	19,4	20,6	16,0
31. »	17,7	24,7		16,3	18,0	—	16. »	13,5	—	22,9	18,4	20,2	15,4
							18. »	12,5	11,6	22,5	18,0	20,5	15,2
1. II.	17,0	23,5		15,5	17,0	†	20. »	12,6	12,0	22,0	17,5	20,8	14,5
3. »	16,5	23,0		14,6	17,5		21. »	†	—	—	17,3	20,4	12,7
6. »	16,4	22,4		14,0	15,4		22. »		12,5	22,6	17,1	—	—
9. »	—	—		—	†		23. »		†	—	—	—	—
10. »	16,5	21,6		†			25. »			22,4	18,4	20,6	17,2

Von den überlebenden Tieren Nr. 205 abgemagert, jedoch munter, Nr. 206 durchaus munter.

Von den überlebenden Tieren Nr. 222 stark abgemagert, sieht krank aus, übrige Tiere munter.

Stellen wir diese Versuchsreihe der vorigen gegenüber, so zeigt sich ein gewisser, allerdings nicht sehr bedeutender Unterschied. Auch in dieser Reihe konnten die Versuchstiere nur zum Teil am Leben erhalten werden, jedoch starben die Tiere später als in den vorigen Versuchen. Von den Mäusen, die am Leben blieben, hatte sich die Mehrzahl auf ihrem Gewicht erhalten, ein Teil hatte sogar an Gewicht zugenommen. Das scheint also vielleicht für eine gewisse Überlegenheit des Futters der letzten Versuchsreihe gegenüber dem der vorhergehenden zu sprechen. Eine Bestätigung der Vorstellung, dafs bei 1stündigem Erhitzen der

Milch die Lipoide zum Teil zerstört werden, und dafs das dadurch gesetzte Defizit an Lipoiden ausgeglichen werden könnte durch Verwendung sehr grofser Milchmengen, können wir jedoch aus diesen Versuchsresultaten nicht herauslesen. Es bleibt somit der merkwürdige Widerspruch, dafs bei ausschliefslicher Milchernährung gekochte Milch von Mäusen vorzüglich vertragen wird, während bei Zusatz von erhitzter Milch zu lipoidfreiem Futter ca. 50–60% der Mäuse zugrunde gehen, vorerst unerklärt. Die Tatsache freilich, dafs in diesen Versuchen die gekochte Milch im gewissen Sinne minderwertig erscheint gegenüber der ungekochten, bleibt als solche bestehen. Vielleicht liefsen sich auf diesem Wege neue Gesichtspunkte für die vielumstrittene Frage der Schädlichkeit sterilisierter Milch in der Säuglingsernährung gewinnen.

Kapitel V.

Versuche mit extrahiertem Futter plus reinen Neutralfetten. Versuche mit extrahiertem Futter plus Lecithin und Cholesterin.

Zu Beginn des vorigen Kapitels war darauf hingewiesen worden, dafs es Ziel der weiteren Untersuchungen sein müsse, zu erforschen, welchen unter den mit dem Sammelnamen »Lipoide« zusammengefafsten Substanzen für die Ernährung eine besondere Bedeutung zukomme. Es war ferner erwähnt worden, dafs möglicherweise die Neutralfette eine Rolle spielen. Dafs das nicht der Fall sein kann, liefs sich überzeugend durch die Versuche mit Milchfett demonstrieren, welches nicht imstande war, die alkoholätherlöslichen Stoffe einer sonst ausreichenden Nahrung zu vertreten. Trotzdem hielt ich es für wünschenswert, noch einen Versuch mit chemisch reinen Neutralfetten auszuführen. Verwandt wurde reines Tripalmitin, Tristearin und Triolein[1]), und zwar in einer Menge von je 3 g auf 100 g extrahiertes Futter.

1) Sämtliche Präparate wurden von der Firma Merck bezogen. Nach Mitteilung der Firma war das Triolein durch Spuren von Cholesterin verunreinigt.

Versuchsreihe XVI. Extrahiertes Milchprotamol plus Tristearin, Tripalmitin und Triolëin.

6 Mäuse (Serie Nr. 91—96) wurden mit extrahiertem Milchprotamol, dem auf 100 g trockenes extrahiertes Milchprotamol je 3 g Tripalmitin, Tristearin und Triolëin zugesetzt wurden, ernährt.

Darstellung des Futters: Das Tripalmitin etc. wurde in heifsem Äther gelöst zugesetzt, dann der Äther verjagt, schliefslich zur Entfernung der letzten Spuren Äther das Futter in Wasser eingeweicht, dann getrocknet.

Sämtliche Tiere starben, das letzte nach 18 Tagen.

Tabelle XVI.

Datum	Serie Nr. 91—96 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 91—96 Gewicht von Maus					
	91	92	93	94	95	96		91	92	93	94	95	96
1910							1910						
16. V.	20,7	18,5	19,6	19,6	18,8	18,7	28. V.	15,2	13,0	12,5	19,2	11,8	14,3
18. »	19,2	17,0	19,3	18,7	17,7	18,0	29. »	14,0	12,2	†	19,0	11,5	14,2
19. »	18,8	16,5	19,5	18,2	17,5	17,7	30. »	†	†		†	†	13,2
21. »	19,3	16,2	17,8	18,7	17,3	18,0	31. »						12,2
23. »	18,4	15,5	15,9	17,7	15,7	17,1	1. VI.						11,2
24. »	17,7	15,0	15,5	18,2	15,0	16,8	2. »						†
25. »	17,0	14,2	14,2	18,4	14,5	15,8							

Dieser Versuch bestätigt die aus dem Versuch VIII gezogene Schlufsfolgerung, dafs bei den Fütterungsversuchen mit lipoidfreier Nahrung es nicht der Mangel an Fetten ist, der den Tod der Tiere herbeiführt. Die Tiere sterben nach Zusatz von Neutralfetten zur extrahierten Nahrung ebenso, wie mit extrahierter Nahrung allein. In einem weiteren Versuch wurde die Wirkung des Zusatzes zweier Repräsentanten der unter den Lipoiden zur Unterscheidung kommenden Gruppen geprüft, des Cholesterin und des Lezithin. Während das erstere in grofser Reinheit zu erhalten ist, möge bezüglich des letzteren daran erinnert werden, dafs wahrscheinlich ein reines Lezithin bisher überhaupt noch nicht dargestellt worden ist[1]), und dafs das zur Verwendung kommende Merckschе Agfa-Lezithin ein durchaus unreines Präparat ist. Da es sich hier jedoch zunächst nur um orientierende Versuche handelt, erschien es für die

1) Ivar Bang, Chemie und Biochemie der Lipoide. Wiesbaden 1911.

vorliegende Frage belanglos, ob ein mehr oder weniger reines Präparat zur Verwendung kam.

Versuchsreihe XVII. Extrahiertes Milchprotamol plus Lezithin und Cholesterin.

6 Mäuse (Serie Nr. 97—102) werden mit extrahiertem Milchprotamol, dem auf 100 g 1,5 g Lezithin und 1,0 g Cholesterin zugesetzt wurde, ernährt. Der Berechnung der zuzusetzenden Mengen wurde der Versuch V zugrunde gelegt, aus welchem sich ersehen liefs, welche Mengen von Eigelb zum Ersatz der aus dem Milchprotamol extrahierten Lipoide notwendig waren. Aus dem Gehalt des Eigelbs an Lezithin und Cholesterin wurde dann berechnet, wieviel von diesen Körpern in diesem Versuch zu nehmen war.

Der Zusatz des Cholesterins und Lezithins erfolgte in ätherischer Lösung. Die Fertigstellung des Futters wurde in der üblichen Weise vorgenommen.

Tabelle XVII.

Datum	Serie Nr. 97—102 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 97—102 Gewicht von Maus					
	97	98	99	100	101	102		97	98	99	100	101	102
1910							1910						
21. V.	20,3	19,7	18,5	18,8	19,0	19,5	1. VI	16,2	14,8	13,7		13,6	12,5
23. »	19,2	18,2	16,7	18,2	18,7	17,0	2. »	15,4	14,1	13,4		†	†
25. »	19,3	17,9	17,0	18,2	18,5	16,2	4. »	15,6	14,2	13,4			
27. »	19,2	18,1	16,6	16,7	17,5	16,5	5. »	15,2	14,0	†			
29. »	18,0	16,7	15,5	14,6	15,8	14,8	7. »	15,1	13,4				
31. »	17,2	15,6	14,2	†	14,5	13,8	8. »	15,2	12,7				
							10. »	14,0	12,5				
							11. »	13,4	12,1				
							12. »	†	†				

Sämtliche Tiere starben, die letzten nach 22 Tagen.

Aus diesem Versuch geht hervor, dafs jedenfalls das Lezithin und das Cholesterin allein nicht genügen, um die Lipoide einer für Mäuse ausreichenden Nahrung zu ersetzen.

Somit harrt die Frage, welche Lipoide für das Leben von besonderer Bedeutung sind, noch ihrer Lösung. Weitere Versuche mit Kephalin und Cerebron sind bereits in Angriff genommen.

Kapitel VI.

Versuche mit extrahierter Nahrung plus Milchextrakt.

Die in diesem Kapitel aufgeführten Versuche bilden die Ergänzung und Fortsetzung der in Kapitel IV beschriebenen, insbesondere der Versuche, in welchen die alkohol-ätherlöslichen Substanzen einer Nahrung durch Milchfett ersetzt waren. Aus den Versuchen hatte ich den Schlufs gezogen, dafs die lebenswichtigen alkohol-ätherlöslichen Stoffe der Milch nicht in dem Milchfett, sondern in dem übrigen Teil der Milch, mit anderen Worten in dem Milchplasma zu suchen sein müfsten. War diese Vorstellung richtig, so mufte es gelingen, Mäuse mit extrahiertem Milchprotamol, dem Alkohol-Ätherextrakte aus Magermilch zugesetzt waren, am Leben zu erhalten. Verwandt wurde für den Versuch getrocknete Magermilch, die mir in liebenswürdigster Weise von der Firma Pafsburg in Berlin zur Verfügung gestellt wurde.

Versuchsreihe XVIII. Extrahiertes Milchprotamol plus Alkohol-Ätherextrakt aus getrockneter Magermilch.

6 Mäuse (Serie Nr. 229—234) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 350 g extrahiertes Milchprotamol Alkohol-Ätherextrakt aus 250 g getrockneter Magermilch zugesetzt wurde.

Herstellung des Futters. Das Magermilchpulver wird wiederholt mit der mehrfachen Menge 95% Alkohol bei 40—50° digeriert, dann filtriert. Die vereinigten Extrakte werden im Vakuum zur Trockne gebracht und der Rückstand in Äther aufgenommen. Das mit Alkohol extrahierte Milchpulver wird nach dem Trocknen im Soxhletschen Extraktionsapparat ca. 2 Tage mit Äther extrahiert, das Extrakt mit dem in Äther gelösten Rückstand des Alkoholextraktes vereinigt. Die vereinigten Extrakte wurden dem extrahierten Milchprotamol zugefügt, der Äther verjagt und das Futter in der mehrfach beschriebenen Weise fertiggestellt.

Von den 6 Tieren starb eines nach 32 Tagen, die übrigen waren noch nach 42 Tagen alle munter, sie hatten allerdings alle etwas an Gewicht abgenommen.

Tabelle XVIII.

Datum	Serie Nr. 229–234 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 229–234 Gewicht von Maus					
	229	230	231	232	233	234		229	230	231	232	233	234
1911													
6. II.	21,2	21,3	19,7	22,5	21,9	20,1	1. III	20,3	14,2	17,9	23,3	22,3	21,3
8. »	21,2	21,1	19,8	22,8	22,0	20,4	3. »	19,7	13,9	18,2	23,1	22,3	20,7
10. »	21,0	21,3	19,1	22,6	21,4	19,5	5. »	19,3	13,7	16,8	22,5	21,7	20,1
12. »	21,3	21,5	19,3	23,8	22,5	19,8	6. »	18,7	14,0	16,7	21,6	21,6	20,4
14. »	20,6	20,3	19,0	23,7	22,3	18,8	9. »	17,3	11,6	16,0	19,5	20,7	17,5
16. »	19,6	19,1	17,6	24,0	22,7	18,7	11. »	17,3	†	16,2	19,3	19,7	17,5
18. »	19,6	17,7	16,6	22,8	23,7	18,5	14. »	17,3		16,4	18,9	20,0	18,0
20. »	18,7	15,6	16,4	23,4	23,0	18,3	15. »	17,0		15,8	18,7	19,4	16,2
23. »	18,9	15,5	17,1	24,5	23,8	20,7	17. »	16,7		15,5	18,7	19,3	16,7
25. »	19,4	14,4	17,4	23,7	23,1	19,7	19. »	17,1		16,7	19,3	19,9	17,7
27. »	19,9	14,7	17,2	24,5	23,2	20,8	21. »	17,0		17,3	19,0	20,8	18,2

Ein Vergleich dieses Versuchs mit den Versuchen IX und X, in welchen Milchfett verwandt worden war, zeigt überzeugend, dafs in der Magermilch gewisse lebenswichtige alkohol-ätherlösliche Stoffe enthalten sind, während solche in dem Milchfett fehlen oder nur in äufserst geringen Mengen sich finden.

Denn während bei Zusatz von Milchfett zu extrahierter Nahrung sämtliche Versuchstiere nach spätestens 28 Tagen tot waren, waren in dem Versuch mit Magermilchextrakt von den 6 Versuchstieren 5 noch nach 42 Tagen in vorzüglicher Verfassung. Die Tatsache, dafs alle Tiere im Laufe des Versuchs etwas an Gewicht abnahmen, findet vielleicht darin ihre Erklärung, dafs bei der verwandten Methode der Extraktdarstellung aus Milch die Ausbeute nur gering war. Bezüglich der Alkoholextraktion mufste von vornherein wie in den analogen früheren Versuchen auf eine vollkommene Erschöpfung des Ausgangsmaterials verzichtet werden, da die Benutzung des Soxhletschen Extraktionsapparates mit Rücksicht auf die Zersetzlichkeit gewisser Lipoide bei höheren Temperaturen nicht angängig war. Die durch Äther extrahierbaren Substanzen dagegen waren wohl zum gröfsten Teil gewonnen worden.

Wenn nun — was durchaus nicht unmöglich erscheint — die lebenswichtigen Lipoide der Milch durch Alkohol sich vielleicht leichter extrahieren lassen, wie durch Äther, so war möglicherweise die Nahrung im Versuch XVIII arm an lebenswichtigen Lipoiden, trotzdem das zur Extraktdarstellung verwandte Ausgangsmaterial relativ grofs war. War diese Vorstellung richtig, so mufste bei Verwendung noch kleinerer Milchmengen zur Extraction ceteris paribus die Nahrung gänzlich unzureichend werden. Dabei konnte es keinen Unterschied machen, ob Magermilch zur Verwendung kam oder Vollmilch. Denn bei der Entfettung der Milch durch Centrifugieren gingen von den lebenswichtigen Lipoiden so gut wie keine in das Milchfett über.

Versuchsreihe XIX. Extrahiertes Milchprotamol plus Alkoholätherextrakt aus getrockneter Vollmilch.

6 Mäuse (Serie Nr. 235—240) wurden mit extrahiertem Milchprotamol gefüttert, dem auf 350 g extrahiertes Milchprotamol Alkoholätherextrakt aus 145 g getrockneter Vollmilch zugesetzt wurde.

Tabelle XIX.

Datum	Serie Nr. 235—240 Gewicht von Maus						Datum	Serie Nr. 235—240 Gewicht von Maus					
	235	236	237	238	239	240		235	236	237	238	239	240
1911							1911						
12. II	23,5	24,5	24,2	24,0	22,9	19,0	1. III.		16,8	23,7	15,8	15,9	†
14. »	24,3	24,1	23,7	24,2	24,0	19,5	3. »		16,9	—	15,0	†	
16. »	22,7	23,3	23,1	23,6	23,0	19,0	4. »		16,8	24,0	15,4		
17. »	23,0	22,6	22,3	22,3	22,6	19,2	5. »		†	—	—		
19. »	22,8	22,8	22,5	22,8	22,9	19,5	7. »			25,2	14,7		
21. »	19,8	22,5	20,5	21,2	21,6	18,2	9. »			23,2	13,1		
23. »	18,5	21,3	20,5	19,5	20,6	17,2	15. »			18,7	12,7		
25. »	†	19,2	17,7	17,7	18,5	15,2	16. »			†	†		
27. »		18,7	19,0	16,4	17,0	14,1							
28. »		16,7	19,2	16,0	16,5	13,7							

Die Darstellung des Futters erfolgte wie in Versuch XVIII Sämtliche Tiere starben, nach 32 Tagen waren alle tot. Der

Versuch liefert eine gute Bestätigung der Erklärung für Versuch XVIII, dafs nämlich in dem letzteren die Nahrung arm an lebenswichtigen Lipoiden war. Eine weitere Reduktion dieser Körper wie im Versuch XIX erwies sich mit dem Leben unvereinbar. Der höhere Fettgehalt der Nahrung im Versuch XIX — infolge Verwendung von Vollmilch — gegenüber dem Versuch XVIII erschien, wie das zu erwarten war, dabei völlig irrelevant.

Auch diese beiden Versuche scheinen mir für die Frage der Säuglingsernährung von Bedeutung zu sein. Es sei nur erinnert an die in letzter Zeit vielfach geübte Darreichung einer fettarmen Milch. Vielleicht spielen ferner in den bekannten Austauschversuchen von L. F. Meyer[1]) die Lipoide eine besondere Rolle.

Wenn die in dieser Arbeit beschriebenen Fütterungsversuche, da sie an Mäusen angestellt sind, zunächst auch nur für Mäuse Geltung haben, so liegt nach zahlreichen Analogien kein Grund vor, anzunehmen, dafs unter den Säugetieren die Mäuse hierin eine besondere Stellung einnehmen sollten. Es erscheint vielmehr wahrscheinlich, dafs die gleichen Gesetzmäfsigkeiten, die hier festgestellt werden konnten, auch für die höheren Tiere Geltung haben. Gewifsheit wird auch hier erst das Experiment bringen.

Was die Deutung der Versuche selbst anlangt, so möge zusammenfassend gesagt werden, dafs dieselben klar und eindeutig zeigen, dafs gewisse alkoholätherlösliche Stoffe für die Ernährung von Mäusen unentbehrlich sind. Über die fraglichen Stoffe läfst sich nur soviel sagen, dafs sie, da sie alkoholätherlöslich und nicht Fette sind, unter die Bezeichnung Lipoide fallen.

Für die Physiologie der Ernährung scheinen die Versuche insoferne von Bedeutung, als sie darauf hinweisen, dafs eine rein kalorische Bewertung der Nahrung unzureichend erscheint.

1) Monatsschrift f. Kinderheilkunde V., 1907, S. 361.

Zusammenfassung.

1. Mäuse gehen bei Ernährung mit einem sonst ausreichenden Futter, das durch Alkohol und Äther völlig von den Lipoiden befreit ist, ausnahmslos in wenigen Wochen zugrunde. Ist das Futter ungenügend extrahiert, so können die Mäuse wochenlang munter bleiben.

2. Dafs der Tod der mit extrahiertem Futter ernährten Tiere nicht etwa Folge einer bei der Extraktion eingetretenen Verarmung der Nahrung an Salzen ist, geht daraus hervor, dafs nachträglicher Zusatz der Salze den Tod der Tiere nicht aufzuhalten vermag.

3. Der Tod der mit extrahierter Nahrung gefütterten Tiere ist in der Tat Folge des Mangels gewisser alkoholätherlöslicher Stoffe. Denn durch Zusatz von Alkoholätherextrakten aus gewissen an alkoholätherlöslichen Körpern reichen Stoffen zu der extrahierten Nahrung lassen sich Mäuse dauernd am Leben erhalten.

4. Versuche mit lipoidfreier Nahrung sind gleichzeitig Versuche mit fettfreier Nahrung. Die Fette spielen jedoch in diesen Versuchen keine ausschlaggebende Rolle: Denn Zusatz einer aufserordentlich zweckmäfsigen Mischung aller möglichen Fette — Butter — zu extrahierter Nahrung hat keine Wirkung, d. h. sämtliche Tiere gehen zugrunde wie mit extrahierter Nahrung allein.

5. In der Butter, d. h. in dem Milchfett, können also keine oder nur äufserst geringe Mengen der lebenswichtigen alkoholätherlöslichen Stoffe enthalten sein.

6. Die lebenswichtigen alkoholätherlöslichen Stoffe der Milch sind vielmehr in dem Milchplasma enthalten. Bei Ernährung mit extrahiertem Futter mit Zusatz von Alkoholätherextrakt aus getrockneter Magermilch sind Mäuse noch nach 6 Wochen völlig munter.

7. Die Untersuchung der Frage, wieviel Milch zu einer extrahierten Nahrung zugefügt werden mufs, damit diese die zur Ernährung notwendige Menge an Lipoiden enthält, ergibt folgendes:

   75 ccm Milch auf 100 g trockenes extrahiertes Futter sind ungenügend: alle Tiere sterben;

   200 ccm Milch auf 100 g trockenes extrahiertes Futter sind genügend: alle Tiere bleiben am Leben.

8. Die Untersuchung der Frage nach der Veränderung der Milchlipoide beim Kochen wird nicht vollständig geklärt. Es wird folgender Widerspruch aufgefunden: Mit gekochter Milch allein kann man Mäuse ebenso wie mit ungekochter dauernd ernähren. Dagegen erweist sich ein aus extrahiertem Futter und gekochter Milch zusammengesetztes Futter für die Hälfte der Versuchstiere nicht ausreichend, während bei Verwendung ungekochter Milch das gleiche Futter vorzüglich vertragen wird. Diese Versuche demonstrieren eine Überlegenheit der ungekochten Milch gegenüber der gekochten Milch.

9. Die lebenswichtigen alkoholätherlöslichen Stoffe einer Nahrung, bei deren Mangel Mäuse gesetzmäfsig zugrunde gehen, sind nicht Fett. Dafür spricht neben den Versuchen mit Butter folgender Versuch: Bei Ernährung mit extrahierter Nahrung unter Zusatz von Tripalmitin, Tristearin und Triolëin sterben alle Tiere ebenso wie mit extrahierter Nahrung allein.

10. Dafs Lezithin (Merck) und Cholesterin allein nicht die lebenswichtigen Lipoide darstellen, zeigt ein Versuch mit Zusatz dieser Körper zur extrahierten Nahrung: sämtliche Tiere sterben.